

Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa

Trabalho Final de Mestrado em Medicina

NEOPLASIA ENDÓCRINA MÚLTIPLA TIPO 2A

- um *update* e a discussão de um caso clínico

Aluna: Mariana Palminha Gabriel

Orientador: Dr. Carlos Manuel Zagalo Fernandes Ribeiro

Responsável pela Unidade Curricular: Prof. Doutor José Crespo Mendes de
Almeida

Resumo

A neoplasia endócrina múltipla do tipo 2A (NEM-2A) é uma síndrome autossômica dominante caracterizada pela ocorrência concomitante de carcinoma medular da tiroide (CMT), feocromocitoma (FEO) e/ou hiperparatiroidismo primário (HPTP) num mesmo doente. A NEM-2A é causada por mutações ativadoras no proto-oncogene RET (do inglês, *rearranged during transfection*).¹

Menos frequentemente, a NEM-2A pode ter outras manifestações associadas, nomeadamente, a doença de Hirschsprung e amiloidose cutânea sob a forma de líquen.²

O CMT é normalmente a primeira manifestação e a principal causa de morte em doentes com NEM-2A, tem pior prognóstico quando se encontra metastizado e melhor prognóstico tratado precocemente.³

A relação entre o genótipo da doença e o seu fenótipo (os tumores endócrinos expressos, a idade de aparecimento e a agressividade dos tumores) tem sido cada vez mais bem documentada ao longo dos últimos anos. Deste modo, a associação de mutações no RET causadoras à síndrome NEM-2A proporcionou a identificação de indivíduos em risco, e consequentemente, a antecipação do seu tratamento (por vezes, considerado profilático).^{3,4}

Neste trabalho, será primeiramente abordada a fisiopatologia, a marcha diagnóstica e a terapêutica da NEM-2A, e posteriormente será discutido um caso clínico relacionado com esta patologia.

Abstract

Multiple endocrine neoplasia type 2A (MEN-2A) is an autosomal dominant genetic syndrome caused by activating mutations in the RET (*rearranged during transfection*) proto-oncogene. Patients with this syndrome almost always have medullary thyroid carcinoma (MCT), they may have pheochromocytoma and/or primary hyperparathyroidism.¹

The syndrome of MEN-2A can have other, but less frequent, associated clinical manifestations, such as, Hirschsprung's disease and cutaneous lichen amyloidosis.²

Usually, MCT is the first manifestation and the main cause of death of patients with MEN-2A. Its prognosis is worst when the tumor is metastasized and it's better when early treated.³

The genotype-phenotype correlation (the kind of endocrine tumors expressed, age of their clinical expression and tumors' aggressivity) has been well documented in the past few years. Consequently, the association of RET mutations to this syndrome has been helping the identification of individuals at risk and the anticipation of their (sometimes prophylactic) treatment.^{3,4}

In this article, there's firstly an approach to the pathophysiology, diagnostic process and therapeutics of the MEN-2A, and then the discussion of a related clinical case.

Índice

1.Base genética e proto-oncogene RET	5
2.Carcinoma Medular da Tireoide: Esporádico vs. Hereditário	6
3.Apresentação Clínica	7
4.Diagnóstico	11
5.Prevenção: <i>Screening</i> e Tireoidectomia Profilática	14
6.Terapêutica	16
7.Prognóstico e <i>Follow-up</i>	19
8.Discussão de um Caso Clínico	20
9.Bibliografia	24

1. Base genética e proto-oncogene RET

A NEM-2A é uma síndrome hereditária de transmissão autossómica dominante, cuja oncogénese tem por base mutações da linha germinativa com ganho de função do proto-oncogene RET.⁴

Existem cerca de 70 mutações identificadas no gene RET responsáveis pelas neoplasias endócrinas múltiplas do tipo 2 (NEM-2), quer estas sejam do tipo A ou do tipo B. Apesar disso, as NEM-2 são síndromes raras, com uma incidência 1:200 000.⁵ Para a compreensão da NEM-2A é preciso saber distingui-la da NEM-2B, que é caracterizada por CMT, FEO, ganglioneuromatose das mucosas, espessamento dos nervos córneos e aparência marfanóide.¹

O proto-oncogene RET está localizado no braço longo do cromossoma 10 (10q11.2), compreende 21 exões e codifica um receptor transmembranar da tirosina cinase composto por 1114 aminoácidos. Por sua vez, a proteína RET tem 3 domínios funcionais: um extracelular, contendo uma região rica em caderina dependente do cálcio e uma região rica em cisteína (indispensáveis, respectivamente, para a adesão do ligando, manutenção da estrutura terciária e dimerização do receptor); um transmembranar; e um citoplasmático, ligado a duas proteínas tirosina cinase.^{3,4,6}

A ativação do receptor RET depende da ligação do factor neurotrófico derivado de células gliais, da neurturina, da artemina ou da persefina e do seu respectivo co-receptor GFR α (de 1-4; do inglês, *glycosylphosphatidylinositol-linked alpha co-receptor*), que formam um complexo-ligando capaz de iniciar cascatas de sinalização responsáveis pela sobrevivência, proliferação, diferenciação e migração de determinadas populações celulares durante desenvolvimento embrionário. O receptor RET é expresso nas células dos arcos branquiais (paratiróides), da crista neural (cérebro, gânglios simpáticos e parassimpáticos, células parafoliculares ou células C da tiróide, células cromafins da medula suprarrenal e gânglios entéricos (plexos submucosos e mioentéricos)) e do sistema urogenital.^{3,5,6}

No entanto, na presença de uma mutação ativadora do gene RET que origine um receptor RET mutado, a transmissão de sinal pela cascata de sinalização vai estar aumentada: ou pela perda da estrutura terciária que condiciona uma alteração da ligação com o complexo ligando; ou pela maior dimerização do receptor por alterações do domínio extracelular, independentemente da ação do ligando; ou pela ativação constitutiva do sinal intracelular. Como consequência, pode dar-se o aparecimento de fenótipos neoplásicos nas células em que o gene RET pode ser expresso.

Ao longo dos últimos anos, diversos trabalhos têm permitido o estabelecimento de uma relação entre mutações germinativas RET e o fenótipo da NEM-2A expresso. Pensou-se que com o passar do tempo, esta relação apenas se tornaria mais clara, porém verificou-se que famílias com NEM-2A com a mesma mutação apresentavam variabilidade na expressão clínica, na agressividade do tumor e na idade de apresentação. Este facto poderá ser explicado pela co-expressão de outros alelos modificadores da doença, como, por exemplo, o proto-oncogene RAS que também se encontra mutado em 10-15% dos doentes com NEM-2A.⁵

O RET é responsável não só pelo desenvolvimento de CMT hereditário e esporádico, mas também de outras patologias malignas e não malignas. Na doença de Hirschsprung, quer seja hereditária ou esporádica, ocorrem mutações inactivadoras do proto-oncogene.¹

2.Carcinoma Medular da Tireoide: Esporádico vs. Hereditário

O CMT representa cerca de 5% de todas as neoplasias tiroideias e ocorre esporadicamente em 75% dos casos, e hereditariamente em 25% dos casos.⁵

Nos casos hereditários associados a mutações RET, apenas 5-9% estão associados a mutações *de novo* em células da linha germinativa, sendo que na grande maioria a mutação autossómica dominante é herdada de, pelo menos, um dos progenitores, mais frequentemente do pai.¹

Em diversos estudos realizados em indivíduos com CMT aparentemente esporádicos (i.e. sem história familiar conhecida de CMT ou antecedentes pessoais de outras doenças endócrinas), foi descoberto que 3-7% dos casos apresentavam mutações germinativas no gene RET. De forma a averiguar a possibilidade de expressão fenotípica da NEM-2A nestes doentes, e nos seus familiares diretos, considerou-se imprescindível oferecer aconselhamento genético (com possibilidade de pesquisa de mutações no gene RET) a todos os indivíduos com CMT ou com hiperplasia de células C, independentemente da sua história familiar.^{2,5}

O CMT associado à síndrome NEM-2A habitualmente manifesta-se entre os 20 e os 30 anos, enquanto que os casos esporádicos costumam manifestar-se mais tarde, por volta dos 50 anos.¹

3. Apresentação Clínica

A NEM-2A representa 95% dos CMT hereditários e pode dividir-se em 4 variantes: a NEM-2A clássica (CMT, FEO e HPTP); a NEM-2A concomitante com ocorrência de amiloidose cutânea sob a forma de líquen (ACL); a NEM-2A concomitante com a doença de Hirschsprung (DH) e o carcinoma medular da tireoide familiar (CMTF), que ocorre em indivíduos ou famílias com mutações RET em células da linha germinativa e que só apresentam CMT.¹

A NEM-2A clássica é a mais comum das variantes. Sabe-se que 95% dos pacientes têm uma mutação germinativa do RET identificada, mais frequentemente nos codões 605, 609, 611, 618 ou 620 do exão 10 ou no codão 634 do exão 11. Existem casos raros em que não se identificam mutações no proto-oncogene, sendo que, nestes casos, o diagnóstico é feito se o indivíduo, ou familiares em primeiro grau, apresentarem as características clínicas da síndrome.¹

Virtualmente, todos os doentes com NEM-2A apresentam CMT e alguns desenvolvem feocromocitoma uni ou bilateral e/ou hiperplasia paratiroideia, sendo que a sua frequência depende da mutação RET que herdaram. A figura 1, elaborada pela *American Thyroid Association* e descrita nas *Guidelines for the Management of Medullary Thyroid Carcinoma*, contém as mutações do RET mais frequentemente associadas ao NEM-2A e NEM-2B, indicando para cada uma delas o risco do CMT ser agressivo, a incidência de feocromocitoma e hiperparatireoidismo, e a possibilidade de ocorrer amiloidose cutânea sob a forma de líquen ou doença de Hirschsprung.¹

RET mutation ^a	Exon	MTC risk level ^b	Incidence of PHEO ^c	Incidence of HPTH ^c	CLA ^d	HD ^d
G533C	8	MOD	+	–	N	N
C609F/G/R/S/Y	10	MOD	+ / ++	+	N	Y
C611F/G/S/Y/W	10	MOD	+ / ++	+	N	Y
C618F/R/S	10	MOD	+ / ++	+	N	Y
C620F/R/S	10	MOD	+ / ++	+	N	Y
C630R/Y	11	MOD	+ / ++	+	N	N
D631Y	11	MOD	+++	–	N	N
C634F/G/R/S/W/Y	11	H	+++	++	Y	N
K666E	11	MOD	+	–	N	N
E768D	13	MOD	–	–	N	N
L790F	13	MOD	+	–	N	N
V804L	14	MOD	+	+	N	N
V804M	14	MOD	+	+	Y	N
A883F	15	H	+++	–	N	N
S891A	15	MOD	+	+	N	N
R912P	16	MOD	–	–	N	N

Figura 1 – Relação entre as mutações RET mais comuns e o risco de CMT na NEM-2A ou NEM-2B, e a incidência de FEO, HPTP, ACL e DH na NEM-2A (legenda: RET mutation = Mutação RET; Exon = Exão; MTC risk level = risco de CMT agressivo (MOD = moderado; H = alto); Incidence of PHEO/Incidence of HPTH = Incidência de FEO/Incidência de HPTP (+ = ~10%; ++ = ~20-30%; +++ = ~50%); CLA = ACL; HD = DH; N = não ocorre para determinada mutação; Y = pode ocorrer para determinada mutação).¹

O **carcinoma medular da tiroide**, a apresentação clínica mais frequente da NEM-2A, é a neoplasia das células C ou parafoliculares, cuja função é a secreção de calcitonina. Habitualmente é a primeira expressão de qualquer uma das variantes, indicado assim que as células C são mais susceptíveis à ativação do proto-oncogene RET. Além disto, o CMT é a principal causa de morte em doentes com NEM-2A, o seu prognóstico piora quando se encontra metastizado e melhora quando é tratado precocemente.³

Pensa-se que a hiperplasia das células C da tiroide é o precursor do CMT, contudo, o seu reconhecimento precoce é difícil porque o número de células C muitas vezes é apenas ligeiramente superior ao normal. Porém, existe uma forma indireta de detetar a hiperplasia de células C ou CMT, isto é, através da medição dos níveis séricos de calcitonina.⁴

Habitualmente, o CMT hereditário é multicêntrico e ocupa as porções médias e superiores de ambos os lobos da tiroideia. O estroma da neoplasia é composto essencialmente por calcitonina, que quando corada possui propriedades semelhantes ao amiloide. Histologicamente, 20% dos tumores têm um padrão predominante de proliferação celular, 40% têm um padrão fibroso com mais de metade do componente celular substituído por estroma acelular calcificado, e os restantes 40% têm um padrão intermédio com aglomerados de células neoplásicas separadas por bandas fibrosas.⁵

O tumor mantém-se confinado à glândula durante um período variável de tempo, acabando por se disseminar para os gânglios linfáticos, e posteriormente, para o cérebro, pulmões, ossos e fígado.⁵

O **feocromocitoma** é o tumor das células cromafins presentes na medula das glândulas suprarrenais que ocorre com excesso de produção de catecolaminas. Até 50% dos doentes com NEM-2A desenvolvem um feocromocitoma.⁵ Estes são quase sempre benignos, multicêntricos, bilaterais, e habitualmente estão confinados às suprarrenais. Histologicamente, estão associados a hiperplasia nodular da medula das glândulas. Quando existe um feocromocitoma unilateral no contexto de NEM-2A, habitualmente surge, num período de 10 anos, um feocromocitoma contralateral. Os feocromocitomas surgem na terceira ou quarta década de vida nos pacientes com NEM-2A e o diagnóstico costuma ser feito concomitantemente com o de CMT. Antes do desenvolvimento de testes bioquímicos e genéticos, o feocromocitoma era a principal causa de morte nos doentes com a síndrome.¹

O **hiperparatiroidismo primário** ocorre em 20 a 30% dos doentes com NEM-2A e está mais frequentemente associado a hiperplasia das glândulas paratiroides do que a adenomas ou carcinoma das mesmas. O HPTP é caracterizado pelo excesso de hormona paratiroideia (PTH), cuja função é aumentar o cálcio sérico. Este aumento é conseguido através da estimulação da libertação de cálcio e fósforo da matriz óssea, do aumento da reabsorção de cálcio pelo rim e do aumento da produção de calcitriol (1,25- dihidroxicalciferol D-3) a nível renal que provoca uma maior absorção de cálcio a nível intestinal. Assim, o aumento da PTH leva a um aumento do cálcio sérico e aumento da excreção renal de fósforo (o que diminui a sua concentração sérica). Portanto, elevados valores de PTH e cálcio sérico são diagnósticos de HPTP. A hipercalcémia costuma ser moderada e pouco sintomática.⁵

Histologicamente, as paratiroides aumentadas contêm múltiplos nódulos hiperplásicos, num padrão definido designado por hiperplasia pseudonodular.⁵ Geralmente, o HPTP é diagnosticado concomitantemente com o CMT, sendo a primeira manifestação de NEM-2A em menos de 5% dos casos.^{1,2}

Em casos raros, associado à NEM 2A podemos encontrar a amiloidose cutânea sob a forma de líquen ou a doença de Hirschsprung.

A ACL ocorre em cerca de 10% dos doentes com NEM-2A.⁵ É uma doença rara em que há a formação de uma lesão papular pigmentada da pele, habitualmente localizada na região escapular correspondendo aos dermatómos T2-T6.⁶ O sintoma clássico da ACL é o prurido intenso que é exacerbado pelo stress e que melhora com a exposição solar. A hiperpigmentação das lesões normalmente desenvolve-se secundariamente a eventuais lesões de coceira. A ACL pode estar presente em idades muito jovens, e até mesmo antes do aparecimento de CMT, pelo que pode ser considerada um sinal precoce da NEM-2A. Ocorre quase exclusivamente em doentes com mutações nos codões 634 e 804 do proto-oncogene RET. Loções e cremes hidratantes, corticóides tópicos, antihistamínicos sistémicos e fototerapia habitualmente aliviam os sintomas pruriginosos, mas não completamente. Há também evidência de resolução das lesões cutâneas após o tratamento com inibidores da tirosina cinase, nomeadamente o vandetanib, com recidiva posteriormente à suspensão do fármaco.¹

A DH é uma doença genética complexa caracterizada pela insuficiente migração, proliferação e diferenciação de células da crista neural durante desenvolvimento do sistema nervoso periférico, levando à ausência de células ganglionares nos plexos mioentérico (Auerbach) e submucoso (Meissner).⁵ A DH habitualmente cursa com obstipação e pode levar a dilatação do cólon.² Ocorre em 7% dos doentes com NEM-2A e encontra-se associada a mutações germinativas no RET envolvendo os exões 609(15%), 611(5%), 618(30%) e 620(50%). Habitualmente, a DH é quase sempre diagnosticada pouco tempo após o nascimento, porém, é importante excluir o seu diagnóstico em doentes mais velhos com a síndrome de NEM-2A, com mutações no exão 10 e com sintomas cólicos sugestivos de DH.¹

A co-expressão fenotípica de NEM-2A e DH é um pouco paradoxal, uma vez que as mutações no proto-oncogene RET normalmente associadas a DH ocorrem com “perda de função” da proteína codificada, enquanto que as mutações associadas a NEM-2A ocorrem com “ganho de função”. A explicação aceite para este facto é que a ativação constitutiva do RET é suficiente para estimular a transformação neoplásica das células C e das células cromafins, e simultaneamente insuficiente para gerar uma resposta trófica nos precursores dos neurónios devido à falta de expressão da proteína RET na superfície celular dos mesmos.^{1,2}

A primeira designação de CMTF definia que 10 membros de uma família com CMT, causada por uma mutação no RET, e com a devida exclusão diagnóstica de FEO e de HPTP poderiam apresentar a patologia. Porém, chegou-se à conclusão que se assim fosse, haveria apenas 3 famílias afetadas em todo o mundo. Por este motivo, tentou-se definir CMTF considerando um número igual ou superior 4 indivíduos da mesma família com CMT causados por uma mutação no RET, sem evidência clínica, laboratorial ou imagiológica de outras manifestações de NEM-2A. No entanto, ao longo dos últimos anos, verificou-se que havia casos de algumas famílias com o diagnóstico de CMTF que desenvolviam posteriormente FEO ou HPTP, obrigando a uma alteração de designação diagnóstica. Por este motivo, a *American Thyroid Association* defende a ideia que o CMTF não deve ser uma entidade distinta da NEM-2A, mas que deve ser considerada uma variante desta, caracterizada pela presença de uma mutação germinativa no proto-oncogene RET numa família cujos indivíduos com CMT não desenvolvem FEO ou HPTP.¹ Esta variante da NEM-2A representa 15% do

total de casos, habitualmente ocorre em indivíduos mais velhos e o CMT é menos agressivo do que a forma clássica.⁵

4. Diagnóstico

O exame físico, a caracterização da história da doença, bem como dos antecedentes pessoais e familiares são cruciais para o diagnóstico da NEM-2A.

Os testes genéticos são, na atualidade, o método diagnóstico de eleição da NEM-2A. Contudo, além não estarem amplamente disponíveis por limitações económicas, compreendem técnicas que podem ser morosas, pelo que são também utilizados testes bioquímicos e imagiológicos para o diagnóstico de CMT, FEO e/ou HPTP.⁷

Em aproximadamente 98% dos doentes com NEM-2A é possível identificar uma das 70 mutações RET conhecidas.⁵ Numa família em que já existe uma mutação identificada no RET, o teste genético é feito nessa direção, pesquisando-se um alelo específico no doente em estudo. Por outro lado, também os doentes com CMT esporádico presumido devem ter o seu DNA testado para a detecção de mutações germinativas do proto-oncogene RET. Numa família não estudada, a estratégia habitual é pesquisar as mutações no proto-oncogene mais frequentes pela síndrome NEM-2A, isto é, nos exões 10 (os codões 609, 611, 618 e 620) e 11 (os codões 630 e 634), e ainda nos exões 8,13,14,15 e 16. Caso não seja encontrada nenhuma mutação RET ou caso haja discrepância entre o fenótipo e o genótipo expectável procede-se à sequenciação completa do proto-oncogene.¹

No contexto de uma NEM-2A, as células tumorais do CMT produzem diversas substâncias químicas detectáveis e doseáveis, tais como a calcitonina e o CEA (do inglês, *carcinoembryonic antigen*), que nos indicam a possibilidade deste diagnóstico.²

A calcitonina é um marcador tumoral relativamente específico no diagnóstico de CMT, mas também no *timing* para a tireoidectomia profilática e no seguimento do doente tireoidectomizado. Habitualmente, os doentes com CMT apresentam valores séricos de calcitonina superiores ao normal.⁸ Contudo, é preciso ter atenção analisar estes valores porque estes podem estar aumentados em doentes com doença renal crónica, hiperparatiroidismo, tiroidite autoimune, carcinoma do pulmão de pequenas

células, carcinoma da próstata, mastocitose e variados tumores neuroendócrinos entéricos e pulmonares. É necessário ter também em atenção que a calcitonina sérica tem valores de referência diferentes para homens ($<10\text{pg/mL}$) e para mulheres ($<5\text{pg/mL}$), sendo maior para os homens, provavelmente porque estes apresentam fisiologicamente uma maior massa de células C.⁵ Apesar disto, foi comprovado em diversos estudos que a medição sérica de calcitonina tem uma maior sensibilidade e especificidade diagnóstica do que os achados da CAAF.¹ A calcitonina pode ser medida no seu estado basal ou após a administração endovenosa de secretagogos, tais como, a pentagastrina ou cálcio. Um valor de calcitonina basal ou pós-administração de um secretagogo $>100\text{pg/mL}$ é uma indicação absoluta para cirurgia.⁵

O CEA não é um marcador específico para CMT. A determinação dos níveis séricos de CEA é útil para avaliar a progressão da doença em doentes com CMT clinicamente evidente e para monitorizar doentes em status pós-tiroidectomia. Este valor deve sempre ser analisado conjuntamente com o valor sérico de calcitonina. Elevados valores de CEA podem também ocorrer caso o doente seja fumador, tenha anticorpos heterofílicos, uma doença inflamatória intestinal, tumores benignos do pulmão ou tenha uma outra neoplasia não-tiroideia. Doentes com elevação do valor sérico de calcitonina e de CEA têm progressão da doença. Doentes com elevação do valor sérico de CEA (marcador precoce de diferenciação epitelial), mas com baixos níveis séricos de calcitonina (marcador tardio de diferenciação), indicam tumores pouco diferenciados, e, portanto, de mau prognóstico. Doentes com CMT avançado com níveis de CEA e calcitonina dentro dos valores de referência ou foram erradamente diagnosticados ou têm um CMT muito diferenciado, o que em qualquer um dos casos confere mau prognóstico.¹

O CMT apresenta-se como um ou vários nódulos da tiroide, que ora são apenas detetáveis na ecografia cervical ora podem ser detetáveis à palpação. A ecografia é o método imagiológico de primeira linha para localizar e caracterizar alterações da tiroide e das paratiroides, bem como fazer o pesquisa de metástases ganglionares.⁷

Os exames imagiológicos para a pesquisa de metástases normalmente estão indicados quando há doença cervical extensa, com sinais ou sintomas de metástases regionais ou à distância, ou quando a calcitonina sérica é superior a 500pg/mL .¹ Nestes casos a TAC cervico-torácica ou a ressonância magnética (RM) fornecem uma boa caracterização da invasão tumoral nas diferentes estruturas do pescoço, mediastino e

regiões adjacentes. Uma TAC de cervico-toraco-abdomino-pélvica ou uma RM de corpo inteiro e uma cintigrafia óssea são aconselhadas a doentes com calcitonina >1000 pg/mL, para a exclusão de metástases hepáticas, pulmonares, mediastínicas e ósseas.^{1,7,9}

O estudo imagiológico deve ser sempre feito pré-cirurgicamente em doentes com diagnóstico histológico ou citológico de CMT para avaliar a localização exata, extensão da doença e a possibilidade de metástases à distância.¹

Os nódulos da tiroide com >1cm e com características suspeitas à ecografia cervical têm indicação para fazer uma citologia aspirativa por agulha fina para diagnóstico histológico. Caso os resultados sejam inconclusivos deve ser feita a quantificação de calcitonina sérica.¹ O CMT tem uma aparência muito variável numa CAAF, sendo que os critérios citológicos mais importantes são: padrão celular disperso de células poligonais ou triangulares, a presença de grânulos citoplasmáticos azurofílicos e núcleos excêntricos com grânulos grosseiros de cromatina e amiloide. Uma metanálise de 15 publicações concluiu que a eficácia diagnóstica da CAAF para CMT era inferior a 50%.¹

A análise morfológica duma biópsia tiroideia ou da peça operatória ajudam-nos a estabelecer o diagnóstico definitivo de CMT. Macroscopicamente, o tumor tem uma cor esbranquiçada, avermelhada ou acastanhada. O CMT esporádico é habitualmente um nódulo solitário da tiroide, enquanto que o CMT hereditário é mais frequentemente multicêntrico e bilateral. Ao exame histológico, as células são tipicamente redondas, poliédricas ou fusiformes e formas nichos pálidos perifericamente. A hiperplasia das células C habitualmente precede o CMT hereditário, pelo que doentes com hiperplasia das células C na análise morfológica de toda glândula (mais de 7 células por *cluster*, foliculos completamente envoltos em células C ou presença de células C para lá dos limites anatómicos – junção do terço superior com os dois terços inferiores de cada um dos lobos) devem fazer a pesquisa para mutações RET.¹

No diagnóstico de NEM-2A presença de HPTP e FEO também deve ser excluída.

Para exclusão de HPTP, a medição sérica de cálcio e de PTH têm grande utilidade. Exames de imagem não fazem o diagnóstico HPTP, mas ajudam o cirurgião na abordagem cirúrgica, e em doentes com HPTP recorrente ou persistente pós-

cirúrgico estão definitivamente indicados. Atualmente, a ecografia cervical e a cintigrafia com tecnécio-99m-sestamibi são o *gold standard* para localização paratiroides.^{9,10}

Existe uma suspeita de FEO quando há uma elevação das catecolaminas ou dos metabolitos das catecolaminas (i.e. norepinefrina, epinefrina, metanefrinas e ácido vanilmandélico) no plasma ou na urina de 24h. Contudo, pode haver falsos negativos quando os tumores têm menos de 6-7mm. Portanto, para confirmar ou excluir o diagnóstico em doentes com elevação de catecolaminas, é possível fazer exames imagiológicos para identificação e localização do FEO, nomeadamente, a TAC ou a RM abdominal são habitualmente as primeiras escolhas.^{1,7} A escolha entre um ou outro método não é consensual entre autores.^{2,9}

5.Prevenção: *Screening* e Tireoidectomia Profilática

Antes dos testes genéticos estarem disponíveis, todos os familiares em primeiro grau de doentes com NEM-2A faziam exames de despiste da síndrome, nomeadamente: medição dos níveis de calcitonina, doseamento de catecolaminas na urina de 24h e medição do cálcio sérico e da PTH.⁷

Atualmente, é possível a pesquisa de mutações no proto-ongene RET em familiares de um doente com NEM-2A que, mesmo assintomáticos, podem vir a desenvolver a síndrome. Numa família em que haja um caso de NEM-2A conhecido, é altamente recomendado que os familiares em primeiro grau tenham o seu DNA testado, preferencialmente antes dos 5 anos de idade. Também os doentes que tenham ACL ou DH devem ser testados para as mutações associadas com a NEM-2A, uma vez que a manifestação clínica destas patologias pode ser o primeiro indício da síndrome endócrina múltipla. Existe ainda a possibilidade de ser feito o diagnóstico pré-natal ou pré-concepcional.¹

Os indivíduos assintomáticos com uma mutação no RET detetada devem fazer despiste para CMT, FEO e HPT a cada 6 meses, e deve-lhes ser aconselhada a realização de uma tireoidectomia total profilática.⁷ A questão, nestes indivíduos que possuem a mutação mas que se encontram assintomáticos, reside no *timing* para a realização da tireoidectomia profilática – este deverá depender da mutação *per se* (que confere um determinado risco de CMT agressivo, descrito na figura 1), do estado clínico do indivíduo e dos níveis séricos de calcitonina.⁵

Indivíduos com mutações associadas a um risco alto de CMT agressivo (H, na figura 1), mas sem qualquer evidência clínica de CMT, devem ser submetidos a tireoidectomia total a partir dos 5 anos de idade, ou mais cedo se os níveis de calcitonina sérica forem superiores ao valor de referência. A disseção linfática do compartimento central (níveis VI e VII, figura 2) deve ser realizada caso a calcitonina sérica seja superior a 40 pg/mL ou caso haja evidência imagiológica ou observação direta de metástases nos gânglios linfáticos.¹

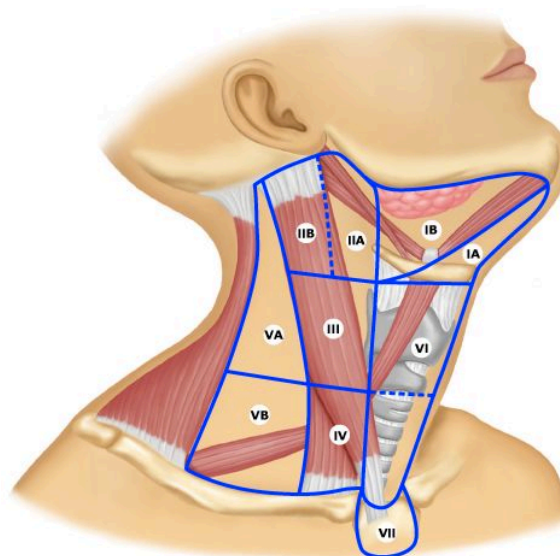


Figura 2 – Classificação de gânglios linfáticos cervicais recomendada pela *American Joint Committee on Cancer* e pela *American Academy of Otolaryngology – Head and Neck Surgery*.¹¹

Indivíduos com mutações associadas a um risco moderado de CMT agressivo (MOD, na figura 1), mas sem qualquer evidência clínica, devem ser mantidos sob *watchful waiting*: vigiados com exame físico, ecografia da tireoide e medição da calcitonina sérica a cada 6 meses a partir dos 5 anos de idade. A tireoidectomia profilática deverá ser realizada quando os níveis de calcitonina sérica forem superiores ao valor de referência. Porém, os indivíduos podem viver décadas sem qualquer alteração clínica.¹

Até à data, a tireoidectomia profilática em doentes com uma mutação no RET demonstrou ser eficaz na prevenção do aparecimento de CMT nos 5 anos após a cirurgia. Contudo, resultados a longo prazo são necessários para validar este procedimento.¹²

Importa ainda salientar que a tireoidectomia total realizada em crianças tem maiores complicações, nomeadamente hipoparatiroidismo pela excisão accidental das paratiróides que são mais dificilmente identificáveis.¹

O *screening* para FEO deve ser iniciado aos 11 anos em indivíduos com mutações RET de alto risco para CMT agressivo (H, na figura 1) e aos 16 anos para indivíduos com mutações RET com risco moderado (MOD, na figura 1) para CMT agressivo. O despiste inclui a medição de catecolaminas ou metabolitos das mesmas no plasma ou na urina de 24h. Se estas estiverem aumentadas, deverá ser feita uma TAC ou RM para avaliar as glândulas suprarrenais.¹

O despiste para HPTP deve ser iniciado em simultâneo com o do FEO (aos 11 anos se alto risco para desenvolver CMT agressivo (H, na figura 1); aos 16 anos, se risco moderado (MOD, na figura 1)). Esta vigilância inclui a medição de cálcio corrigido para a albumina e, facultativamente, a medição da PTH sérica.¹

O aconselhamento genético deve ser fornecido a todos os doentes e famílias com o diagnóstico de NEM-2A.²

6.Terapêutica

A remoção cirúrgica do tumor ou da glândula afectada é a melhor forma de tratamento tendo em vista a cura.²

Em doentes com o diagnóstico de CMT, deve ser sempre previamente excluída a presença de FEO.¹ Caso o diagnóstico de CMT e FEO seja feito em simultâneo, deve ser excisado primeiro o FEO sob o risco de aparecimento de hipertensão potencialmente fatal durante a tireoidectomia. Para além disso, nas duas semanas anteriores à adrenalectomia deve ser administrado um bloqueador dos receptores α , e por vezes também um bloqueador B, sendo que na semana pré-operatória devem ser administrados por via intravenosa.² Intraoperatoriamente e pós-operatoriamente devem ser administrados corticóides.⁷

Os doentes com NEM-2A habitualmente apresentam FEO bilateralmente, o que obriga à excisão também bilateral, apesar do risco de insuficiência adrenal ou de uma crise Addisoniana. Quando existe um FEO unilateral, a adrenalectomia unilateral está indicada por ter um menor o risco de insuficiência adrenal, apesar da grande probabilidade do aparecimento de um feocromocitoma contralateral num período de 10 anos. Há ainda autores que defendem a adrenalectomia subtotal, uma vez que

preservando 15-20% da glândula previne-se a dependência de glucocorticóides em 80%, embora o risco de recorrência de FEO seja 20% em 20 anos. A abordagem cirúrgica pode ser laparoscópica transperitoneal ou retroperitoneoscópica uma vez que ambas obtêm resultados equivalentes, com reduzidas complicações intraoperatórias e reduzido tempo de recuperação.^{1,7}

A proposta cirúrgica habitual para o CMT associado à síndrome NEM-2A compreende uma tireoidectomia total com disseção de cadeias linfáticas cervicais e exploração das glândulas paratiroides, pela possibilidade de metastização do CMT para os gânglios linfáticos cervicais e afecção paratiroideia.⁷

Durante uma tireoidectomia total, as glândulas paratiroideias normais devem ser preservadas *in situ* com um pedículo vascular. No entanto, os doentes que durante a tireoidectomia tenham um aumento visível de qualquer uma das paratiroides, devem ser submetidos à ressecção dessa(s) mesma(s) glândula(s). Se as 4 paratiroides tiverem aumentadas há 2 hipóteses: ou se excisam 3 glândulas e se faz uma paratiroidectomia subtotal da restante, preservando-a *in situ* com um pedículo vascular; ou se excisam todas as glândulas e se faz um transplante do tecido de uma das glândulas para um local heterotópico.¹

Em indivíduos com elevado risco cirúrgico, esperança média de vida limitada ou HPTP recorrente ou persistente após 1 ou 2 tentativas cirúrgicas, o HPTP deve ser tratado medicamente.²

Doentes com CMT e sem evidência de invasão ganglionar cervical ou de metastização à distância, devem ser submetidos a tireoidectomia total com disseção linfática do compartimento cervical central (nível VI e VII, na figura II). Há autores que recomendam que nestes mesmos casos em que não há evidência de metastização, mas que em os valores de calcitonina sérica são superiores a 20 pg/mL ou a 200 pg/mL, que se faça também a disseção ganglionar, respectivamente ipsilateral ou bilateral dos níveis II a V. Quando há disseminação linfática cervical ipsilateral comprovada imagiologicamente a proposta cirúrgica é a realização de uma tireoidectomia total com esvaziamento ganglionar central e ipsilateral (níveis II a VI, na imagem), porém considerando que se a calcitonina sérica for superior a 200 pg/mL deve também realizar-se a disseção linfática contralateral (níveis II a VI, na imagem). Embora não se consigam curar todos os doentes, a ressecção de metástases locais

diminui o risco de recorrência local. Além disso, a dissecação dos compartimentos centrais e laterais pode prevenir complicações, tais como, a invasão no nervo laríngeo recorrente ou de outros ramos nervo vago, a invasão dos próprios tratos respiratório e digestivo, e a invasão do nervo espinhal.¹

A maioria dos doentes com CMT e metástases linfáticas regionais apresenta também doença sistémica, motivo pelo qual a tiroidectomia e disseção linfática bilateral não é curativa. Nestes doentes, e nos doentes com doença regional extensa com ou sem metástases à distância, uma cirurgia menos agressiva deve ser realizada de modo a preservar a fonação, deglutição, atividade paratiroideia e mobilidade escapular. A radioterapia ou a quimioterapia sistémica podem ser úteis nestes casos para controlo tumoral local.¹

A maioria dos doentes com CMT hereditário quando se apresenta com um nódulo da tiroide já tem metástases linfáticas regionais ou à distância para órgãos como o cérebro, os ossos, os pulmões ou o fígado. Nestes doentes, a tiroidectomia raramente é curativa, apesar de muitos doentes serem reoperados para remoção do tumor residual. Metástases à distância limitadas a um órgão podem ser consideradas para ressecção cirúrgica curativa e outra modalidade de tratamento. A radioterapia externa pode ajudar ao controlo da doença locoregional, apesar de não se ter ainda estabelecido o seu impacto na sobrevida global. A quimioterapia, com doxorubicina e 5-fluorouracil ou dacarbazina, é relativamente ineficaz em doentes com CMT, e as respostas infrequentes que ocorrem não têm grande melhoria na sobrevida. Consequentemente, é cada vez mais necessária uma alternativa terapêutica eficaz para indivíduos com doença localmente avançada ou CMT metastático. Neste contexto, surgiram os inibidores da tirosina cinase, entre os quais, o vandetanib e o cabozantinib, aprovados para doentes com CMT avançado.³

O vandetanib é seletivamente dirigido ao RET, VEGFR2/3 (*vascular endothelial growth factor receptor-2 and -3*) e EGFR (*epidermal growth factor receptor*), responsáveis pelo crescimento e metastização do CMT. O cabozantinib é seletivamente dirigido ao RET, VEGFR2 e HGFR (*hepatocyte growth factor receptor*), que promovem o crescimento e angiogénese do CMT. Apesar da maior parte das vezes conferirem remissões parciais, ambos inibidores da tirosina cinase aumentam a sobrevida livre de doença e estão aprovados como terapêutica de primeira linha para CMT irresssecável, agressivo e sintomático, independentemente da mutação RET associada.³

7. Prognóstico e *Follow-up*

O prognóstico da NEM-2A depende essencialmente do estadiamento do CMT na altura do diagnóstico e dos valores pós-operatórios de calcitonina sérica, visto que a sua normalização até aos 3 meses está associada a *outcomes* favoráveis.⁷ O estadiamento do CMT é feito através da classificação TNM publicada pelo *American Joint Committee on Cancer* (figura 3). Alguns autores, defendem que, para além da classificação qualitativa do envolvimento linfático (N1a e N1b), a classificação TNM deveria incluir uma classificação quantitativa das metástases linfáticas, nomeadamente: 1-10 gânglios afetados (N1), 11-20 gânglios afetados (N2) e mais de 20 gânglios afetados (N3).¹

Primary tumor (T) ^a	Regional lymph nodes (N) ^b
TX Primary tumor cannot be assessed	NX Regional lymph nodes cannot be assessed
T0 No evidence of primary tumor	N0 No regional lymph node metastasis
T1 Tumor 2 cm or less in greatest dimension, limited to the thyroid	N1 Regional lymph node metastasis
T1a Tumor 1 cm or less, limited to the thyroid	N1a Metastasis to level VI (pretracheal, paratracheal, and prelaryngeal/Delphian lymph nodes)
T1b Tumor more than 1 cm, but not more than 2 cm, in greatest dimension, limited to the thyroid	N1b Metastasis to unilateral, bilateral, or contralateral cervical (levels I, II, III, IV, or V) or retropharyngeal or superior mediastinal lymph nodes (level VII)
T2 Tumor more than 2 cm, but not more than 4 cm, in greatest dimension, limited to the thyroid	
T3 Tumor more than 4 cm in greatest dimension limited to the thyroid, or any tumor with minimal extrathyroid extension (e.g., extension to sternothyroid muscle or perithyroid soft tissues)	Distant metastases (M)
T4a Moderately advanced disease; tumor of any size extending beyond the thyroid capsule to invade subcutaneous soft tissues, larynx, trachea, esophagus, or recurrent laryngeal nerve	M0 No distant metastasis
T4b Very advanced disease; tumor invades prevertebral fascia or encases carotid artery or mediastinal vessels	M1 Distant metastasis
	Anatomic stage/prognostic groups
	Stage I T1, N0, M0
	Stage II T2, N0, M0
	T3, N0, M0
	Stage III T1, N1a, M0
	T2, N1a, M0
	T3, N1a, M0
	Stage IVA T4a, N0, M0
	T4a, N1a, M0
	T1, N1b, M0
	T2, N1b, M0
	T3, N1b, M0
	T4a, N1b, M0
	Stage IVB T4b, any N, M0
	Stage IVC Any T, any N, M1

Figura 3 – Classificação TNM do *American Joint Committee on Cancer*

Estima-se que a sobrevivência aos 10 anos para indivíduos com CMT no estadiamento I, II, III e IV seja, respectivamente, 100%, 93%, 71% e 21%.¹

O *follow-up* faz-se essencialmente através do exame físico e da monitorização dos níveis séricos de calcitonina, CEA, TSH, metanefrinas plasmáticas ou em urina de 24h: 3 meses após a tireoidectomia, a cada 6 meses no ano seguinte e um vez por ano após o primeiro ano).^{1,7} Se o valor de calcitonina sérica se mantiver elevado, mas <150 pg/mL, deve ser adicionado ao *follow-up* uma ecografia cervical a cada 6 meses se estas forem sucessivamente negativas. Se a calcitonina sérica se mantiver >150 pg/mL

no período pós-operatório devem ser feitos exames imagiológicos para pesquisa de metastases.¹

Para além disso, os doentes também precisam de ter uma monitorização do cálcio sérico e da PTH, por causa do risco de HPTP (inerente à NEM-2A) ou de hipoparatiroidismo pós-cirúrgico (que geralmente é transitório). Dever-se-á administrar cálcio e vitamina D em doentes que apresentem hipocalcémia, sendo que a sua administração deverá ser crónica caso os doentes não consigam manter os valores normais.⁵

Doentes submetidos a tireoidectomia total devem tomar tiroxina *per os* para o resto da vida para manter a TSH em níveis eutiroides.⁷ Por outro lado, doentes submetidos a adrenalectomia total requerem a toma de corticóides, com devida monitorização. Para além disso, os doentes devem ser ensinados para os riscos e formas de prevenção de uma crise adrenérgica.¹

8. Discussão de um Caso Clínico

Doente, sexo feminino, 38 anos, com queixas de cervicalgia à esquerda desde há 6 meses. Sem antecedentes pessoais relevantes, sem medicação habitual com exceção de contraceção oral com desogestrel, e com os seguintes antecedentes familiares: avó paterna com bócio multinodular; pai com carcinoma benigno da próstata; tia materna com neoplasia da mama e outra tia materna com doença tiroideia que não sabe especificar.

À observação: massa palpável no lobo esquerdo da tiroide, com cerca de 1cm, duro, doloroso à palpação e à mobilização, sem adenomegalias palpáveis associadas. Procedeu-se à ecografia da tiroide, cujo resultado indicava uma glândula de dimensões normais com uma ecoestrutura heterogénea, identificando-se um nódulo hipocogénico no lobo esquerdo com 21x10 mm e adenomegalias de volume considerável à esquerda, a maior com 16 mm, mas sem alterações no lobo direito.

Na sequência deste resultado, a doente fez uma CAAF, cujo resultado histológico indicou suspeição de neoplasia maligna da tiroide, sem certeza da distinção entre carcinoma medular ou carcinoma folicular, tendo sido aconselhada a avaliação laboratorial com medição dos níveis séricos de calcitonina. Analiticamente, apresentava as hormonas tiroideias T3 (2,57 ng/dL (1,10-2,75)), T4 livre (13,3 ng/dL (10,0-22,0)) e TSH (2,98 µUI/mL (0,40-4,0)) normais, anticorpos anti-peroxidase e

anti-tiroglobulina negativos, mas calcitonina sérica aumentada (580pg/mL (<8.5)).

Em consulta multidisciplinar, decidiu-se fazer a avaliação laboratorial das metanefrinas totais e ácido vanilmandélico na urina de 24h, doseamento da PTH, cálcio total, fósforo e repetição da ecografia cervical para avaliação das glândulas paratiroides que não haviam sido descritas na ecografia anterior.

Analiticamente, a doente apresentava o doseamento de metanefrinas totais (0,4 mg/24h (<1)) e ácido vanilmandélico (1,9 mg/24h (<14)) dentro dos valores de referência; contudo, a concentração plasmática de PTH encontrava-se aumentada (127 pg/mL (12-65)) bem como o cálcio total (10,6 mg/dL (8,4-10,2)). Concluiu-se, portanto, que a doente teria HPTP. Na nova ecografia cervical, confirmaram-se as alterações tiroideias já conhecidas; identificou-se um nódulo hipoeecogénico de morfologia oblonga com 7x4x3 mm, infrajacente ao lobo direito da tiróide e imediatamente interno em relação à carótida comum, de difícil acesso a punção aspirativa ecoguiada, cuja topografia poderia traduzir adenoma da paratiroide, pelo que no enquadramento clínico se sugeriu a correlação cintigráfica; identificaram-se ainda dois gânglios proeminentes, com características reativas, um no nível IIA direito com 22x6 mm e um no nível IIA esquerdo com 17x5 mm, respetivamente.

Desta forma, por se suspeitar do diagnóstico de uma NEM-2A, realizou-se a cintigrafia das glândulas paratiroideias, pediu-se uma TAC abdominal para avaliar a possibilidade de nodularidades nas glândulas suprarrenais, mesmo com avaliação bioquímica negativa, e foi colhido sangue para estudo genético tendo em vista a pesquisa de mutações RET. Como o pai da doente a acompanhava na consulta, colheu também amostras para estudo genético.

A cintigrafia das paratiróides, realizada com administração endovenosa de tecnécio-99m-sestamibi, não demonstrou alterações sugestivas de tecido paratiroideu hiperfuncionante, i.e. não houve persistência de focos de hiperfixação anómala após a 1h fisiológica de *washout*. Contudo, a sensibilidade deste exame é de aproximadamente 60-90%. Na TAC abdominal não foram evidenciadas quaisquer nodularidades nas glândulas suprarrenais, evidenciando-se normal morfologia e dimensões.

Com uma forte suspeita dos diagnósticos de CMT e de HPTP, e com a possibilidade de FEO excluída, decidiu-se em consulta multidisciplinar que a doente seria submetida a cirurgia para excisão tumoral, mesmo antes da confirmação genética da síndrome. Assim, a doente foi submetida a tireoidectomia total, celulectomia das

cadeias linfáticas recorrentes esquerda e direita (níveis II a V, na figura 2), excisão linfática do compartimento central (nível VI, na figura 2) e paratiroidectomia inferior direita.

A histologia das peças operatórias revelou CMT bilateral, multifocal, com invasão linfovascular, sem extensão extratiroideia, com áreas fusocelulares e áreas de padrão fibroso/trabecular; metástase ganglionar em 1 de 9 gânglios linfáticos retirados; e paratiróide inferior direita excisada com adenoma. O estadiamento pela classificação TNM: pT1bpN1aM0 (onde o *p* significa que a classificação foi dada a partir da análise das peças cirúrgicas).

À data de alta, a doente encontrava-se assintomática, contudo, laboratorialmente apresentava hipoparatiroidismo (PTH diminuída (<3 pg/mL (12-65)) e cálcio total diminuído (8,0 mg/dL (8,4-10,2)). Foi medicada com cálcio e vitamina D, além da levotiroxina. Foi reavaliada na semana seguinte: assintomática; analiticamente com PTH diminuída (7,3 pg/mL (12-65)), cálcio total normal (9,1 mg/dL (8,4-10,2)), TSH aumentada (20,70 µUI/mL (0,40-4,0)) calcitonina sérica normal (<2,0 pg/mL (<8.5)). Assim, foi decidido suspender o cálcio e vitamina D e aumentar a dose de levotiroxina.

Na consulta pós-operatória, após 2 meses da cirurgia, a doente mantinha-se assintomática, negando disfonia ou sintomas de hipocalcémia (p.e., parestesias das falanges distais das mãos ou dos pés ou da região peribucal, hiperirritabilidade, fadiga, ansiedade). Encontrava-se medicada com levotiroxina (125µg/dia). Laboratorialmente, todos os parâmetros analíticos avaliados encontravam-se dentro dos valores de referência: PTH 44,5 pg/mL (12-65), cálcio total 8,8 mg/dL (8,4-10,2), TSH 2,59 µUI/mL (0,3-4,2), T3 166 ng/dL (80-200) e T4 livre 1,56 ng/dL (0,9-1,7).

No estudo genético, tanto da doente como do seu pai, para identificou-se uma mutação no exão 10 do proto-oncogene RET c. 1832 G>A (p. C611Y), ou seja, uma substituição de uma guanina por uma adenosina na posição 1832 da sequência codificante do DNA que se traduz na substituição de um aminoácido de cisteína por uma tirosina no codão 611.

Iniciou-se também o *screening* dos dois filhos da doente e foi aconselhado informar outros membros da família relacionados em primeiro grau com o pai da doente.

Em suma, a doente foi apropriadamente diagnosticada com NEM-2A, com expressão de CMT e HPTP com adenoma de uma das paratiroides. De salientar que,

durante a marcha diagnóstica, nunca foi avaliado o marcador tumoral CEA, o qual, apesar de estar indicado, não é muito específico da patologia pelo que não iria alterar a suspeita diagnóstica ou decisão terapêutica. A opção terapêutica, com recurso a cirurgia, foi a adequada de acordo com as mais recentes *guidelines* internacionais e podemos considerar que a doente apresentava um CMT em estadio III, uma vez que o tumor apresentava dimensões inferiores a 2cm e tinha 1 gânglio linfático metastizado. Isto significa que a probabilidade de sobrevida num prazo de 10 anos é de 71%. Contudo, a doente terá necessidade de fazer *follow-up* do CMT e *screening* das condições associadas ao NEM-2A. Isto compreende a pesquisa metástases, de FEO e HPTP, ou hipoparatiroidismo (uma vez que foi excisada uma das paratiroides) pelo que deverá continuar a ser seguida regularmente para avaliação física, avaliação analítica e, eventualmente, imagiológica. Além disso, por lhe ter sido excisada totalmente a glândula tiroideia terá de fazer levotiroxina *ad eternum* e, eventualmente, cálcio e vitamina D no caso de recorrência do hipotiroidismo.

9. Bibliografia

1. Wells, S. a *et al.* Revised american thyroid association guidelines for the management of medullary thyroid carcinoma. *Thyroid* 25, 567–610 (2015).
2. Moline, J. & Eng, C. Multiple endocrine neoplasia type 2: an overview. *Genet Med* 13, 755–64 (2011).
3. Krampitz, G. W. & Norton, J. A. RET gene mutations (genotype and phenotype) of multiple endocrine neoplasia type 2 and familial medullary thyroid carcinoma. *Cancer* 120, 1920–1931 (2014).
4. Walls, G. V. Multiple endocrine neoplasia (MEN) syndromes. *Semin Pediatr Surg* 23, 96–101 (2014).
5. Wells, S. a, Pacini, F., Robinson, B. G. & Santoro, M. Multiple endocrine neoplasia type 2 and familial medullary thyroid carcinoma: an update. *J Clin Endocrinol Metab* 98, 3149–64 (2013).
6. De Groot, J. W. B., Links, T. P., Plukker, J. T. M., Lips, C. J. M. & Hofstra, R. M. W. RET as a diagnostic and therapeutic target in sporadic and hereditary endocrine tumors. *Endocr Rev* 27, 535–560 (2006).
7. Tang, K.-L., Lin, Y. & Li, L.-M. Diagnosis and surgical treatment of multiple endocrine neoplasia type 2A. *World J Surg Oncol* 12, 8 (2014).
8. Eng, C. The RET Proto-oncogene in Multiple Endocrine Neoplasia Type 2 and Hirschsprung's disease. *N Engl J Med* 335, 943–951 (1996).
9. Taïeb, D. *et al.* Diagnosis and preoperative imaging of multiple endocrine neoplasia type 2: Current status and future directions. *Clin Endocrinol (Oxf)* 81, 317–328 (2014).
10. Bellantone, R., Raffaelli, M., DE Crea, C., Traini, E. & Lombardi, C. P. Minimally-invasive parathyroid surgery. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 31, 207–15 (2011).
11. Edge, Stephen; Byrd, David; Compton, Carolyn; Fritz, April; Greene, Frederick; Trotto, A. AJCC Cancer Staging Manual. *American Joint Committee on Cancer* (Springer-Verlag, 2010).
12. Tischler, A. S., Khan, A. & DeLellis, R. a. Prophylactic thyroidectomy in multiple endocrine neoplasia type 2A. *N Engl J Med* 353, 2817–2818; author reply 2817–2818 (2005).